Aus dem Institut für Klinische Physiologie
im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. K. Hierholzer

Aktivierung des Na- und Cl-Transportes an der isolierten menschlichen Cornea durch zyklisches AMP

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Sylvia Schartl, geb. Meckel

aus Wiesbaden

1977

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549607_0084

Aus dem Institut für Klinische Physiologie
im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. K. Hierholzer

Aktivierung des Na- und Cl-Transportes an der isolierten menschlichen Cornea durch zyklisches AMP

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Sylvia Schartl, geb. Meckel

aus Wiesbaden

Referent: Prof. Dr. med. M. Wiederholt

Korreferent: Prof. Dr. T. Günther

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 29.9.1977

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Methodik	2
2.1 Untersuchtes Material	2
2.2 Versuchsanordnung	2
2.2.1 Meßkammern	2
2.2.2 PD-Messung	4
2.2.3 SCC-Messung	4
2.2.4 pH-Messung	5
2.3 Perfusionslösung	5
2.4 Versuchsdurchführung	6
2.4.1 Isotope	6
2.4.2 Versuche zur Ermittlung von Kontrollwerten	7
2.4.3 Versuche mit c-AMP	7
2.4.4 Versuche mit Noradrenalin	8
2.5 Versuchsauswertung	8
2.5.1 Kurzschlußstrom	8
2.5.2 Potentialdifferenz	9
2.5.3 Widerstand	9
2.5.4 Unidirektionale Flüsse	9
2.5.5 Statistik	10
3. Ergebnisse	10
3.1 Kontrollwerte	10
3.1.1 PD	10
3.1.2 SCC	11
3.1.3 Isotopenfluxe	11
3.1.3.1 Natrium-Flux	11
3.1.3.2 Chlorid-Flux	12

Seite

3.2 c-AMP-Gruppe 13

3.2.1 PD 13
3.2.2 SCC 14
3.2.3 Isotopenfluxe 14
3.2.3.1 Natrium-Flux 14
3.2.3.2 Chlorid-Flux 15

3.3 Noradrenalin-Gruppe 16

3.3.1 PD 16
3.3.2 SCC 17
3.3.3 Isotopenfluxe 17
3.3.3.1 Natrium-Flux 17
3.3.3.2 Chlorid-Flux 18

4. Diskussion 27

5. Zusammenfassung 39

6. Literatur 40

1.0 Einleitung

Elektrolyt- und Wasserhaushalt der Cornea spielen eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Transparenz des Organs. Hoher Wassergehalt der Cornea bedingt eine Abnahme der Transparenz durch Veränderungen in ihrer Feinstruktur (33, 34, 45, 55). Für die Dehydrierung der Cornea scheinen aktive Ionentransporte verantwortlich zu sein (60, 61, 62). c-AMP, bekannt als second messenger einer Reihe von Hormonwirkungen (4, 56, 57), kontrolliert neben der Aktivität zahlreicher Schlüsselenzyme (4), der Ausschüttung von Hormonen (25, 63) und anderem (8, 9, 46) auch den Wasser- und Elektrolythaushalt einiger epithelialer Gewebe (2, 50, 51) durch Beeinflussung der Permeabilität und/oder des aktiven Ionentransports.

Für die Frosch- und Kaninchencornea wurde gezeigt, daß c-AMP den Kurzschlußstrom und die dafür verantwortlichen Transportprozesse stimuliert (7, 39). In früheren Untersuchungen an der isolierten menschlichen Cornea fanden Fischer et al. (22), daß die an Frosch- und Kaninchencornea erarbeiteten Modelle nicht ohne weiteres auf die menschliche Cornea zu übertragen sind.

Die folgenden Untersuchungen sollten zeigen, ob c-AMP einen Einfluß auf Kurzschlußstrom, Potentialdifferenz und Ionentransporte an der isolierten menschlichen Cornea hat und somit eine Rolle bei der Regulation der Transparenz des Organs spielt.

Wesentlichstes Ergebnis der Versuche ist die Aktivierung des Natrium- und Chloridtransportes vom Endothel zum Epithel durch c-AMP. Die Versuche erlauben gleichzeitig, auf die Transportrichtung unter Normalbedingungen zu schließen.

Es ist anzunehmen, daß 1. mittels dieser Ionentransporte eine ständige Dehydratation der Cornea erfolgt, indem durch den aktiven Transport von Natrium und Chlorid in Richtung Tränenflüssigkeit passiv Wasser folgt und daß 2. der Vorgang der Aufrechterhaltung der Transparenz unter der Kontrolle des c-AMP steht.

2.0 Methodik

2.1 Untersuchtes Material

Die Untersuchungen wurden an menschlichen Corneae durchgeführt, die von Leichen zwei bis fünf Stunden nach Eintritt des Todes entnommen wurden. Hierzu wurde ein Trepan der Firma OGI Berlin mit einem Durchmesser von 10 mm benutzt. Vor der Entnahme wurden die Corneae mit physiologischer Kochsalzlösung benetzt, um eine Austrocknung zu vermeiden. Der Transport der Corneae zum Versuchsstand erfolgte in einer Petri-Schale auf einem mit physiologischer Kochsalzlösung getränkten Tupfer bei einer Temperatur von ca. 4 Grad Celsius. Durchschnittlich eine Stunde nach der Entnahme wurden die Corneae in die Meßkammern eingespannt.

Bei der Auswahl der Corneae achteten wir darauf, daß sie keine offensichtlichen Schäden zeigten (Blutungen, Ulzera, Trübungen).

2.2 Versuchsanordnung

2.2.1 Meßkammern

Es wurden zwei Meßkammern benutzt, die in ihrem Grundaufbau der von Zadunaisky (59) für Froschcornea-Versuche modifizierten Ussing-Zehran-Kammer weitgehend entsprachen (siehe Abb. 1). Jede Cornea wurde zwischen die beiden

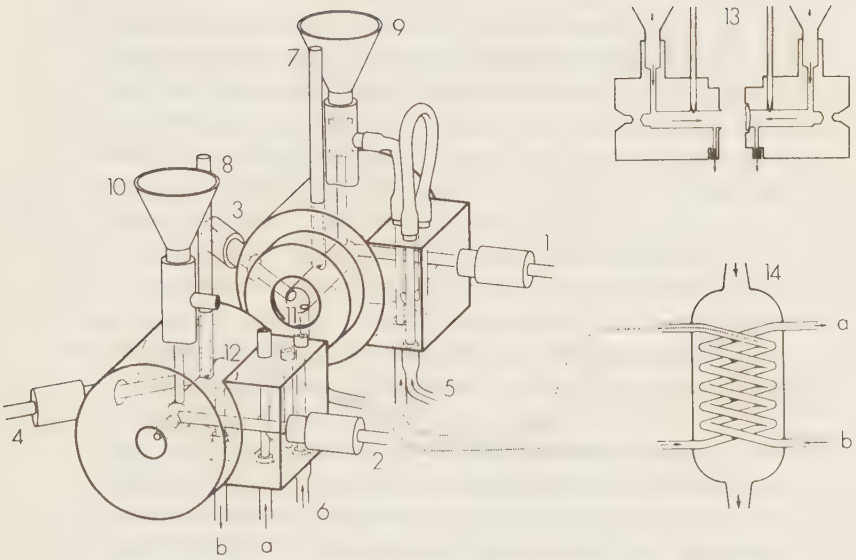

Abb. 1: Schematische Darstellung der Kammer zur Registrierung von Kurzschlußstrom und Potentialdifferenz bei gleichzeitiger Temperaturregulierung und Begasung der Flüssigkeiten; 1,2 KCl-Agarbrücken für die SCC-Applikation; 3,4 KCl-Agarbrücken für die PD-Messung; 5,6 Kunststoffschläuche (Tygon) zur Begasung der Perfusionsflüssigkeit; 7,8 Öffnung für die Temperaturmessung; 9,10 Überlauftrichter, 11,12 Kontaktflächen der Kammer mit der Cornea (11 Epithelseite, 12 Endothelseite); 13 Kammerquerschnitt; a,b Zu- bzw. Ableitung zu den Wärmetauschern; 14 Zuleitung zum Thermostaten.

Kammerhälften aus Plexiglas eingespannt, indem sie zunächst mit der Epithelseite auf die Auflagevorrichtung der rechten Kammerhälfte gelegt wurde, die entsprechend der natürlichen Krümmung der Cornea gearbeitet war (Abb. 1, 11). Danach wurden beide Kammerhälften dicht zusammengepreßt, so daß die Cornea mit ihrem Rand zwischen den Auflageflächen festgeklemmt wurde und in der Mitte ein Teil von 0,33 cm^2 freiblieb, der mit Perfusionslösung in Kontakt kam. Obwohl Fischer et al. (22) zeigen konnten, daß bei dieser Präparation trotz des ungünstig hohen Verhältnisses von Rand zu freier Oberfläche der Cornea der Einfluß des Randschadens auf Potentialdifferenz und Kurzschlußstrom unbedeutend ist, so sollte man ihn doch nicht ganz vernachlässigen.

Zur Gewährleistung der O_2-Versorgung der Cornea mußte die Perfusionsflüssigkeit durchperlt werden. Hierzu verwendeten wir 5 % Kohlensäure und 95 % Druckluft, die durch den auf der Abbildung gekennzeichneten Eingang (5, 6) über gasundurchlässige Kunststoffschläuche (Tygon) einströmten.

Die Kammern waren so konstruiert, daß das Gas und die einströmende Ringerlösung eine Strecke von 3 cm gemeinsam zurücklegten, ehe das Gas durch den Trichter, der jeder Kammerhälfte aufgesetzt war, entwich. So zirkulierte die mit dem Gasgemisch äquilibrierte Ringerlösung an der Cornea vorbei und verließ dann die Kammer unterhalb der Cornea (Abb. 1,b).

Zwischen Kammerwasser und Tränenseite der Kammern bestand eine hydrostatische Druckdifferenz von 3 cm H_2O, um das Vorhandensein eines intraokularen Druckes anzudeuten und damit die normale Krümmung der Cornea zu erhalten.

Die Temperatur der Perfusionsflüssigkeit wurde mit einem Thermostat (Fa. Haake) in Verbindung mit einem Wärmetauscher geregelt (Abb. 1, 14). Die Feineinstellung der Temperatur auf konstant 32 bis 34 Grad Celsius erfolgte über die Einstellung der Durchperlungsgeschwindigkeit. Die Temperaturkontrolle wurde mit einem Sekundenthermometer durchgeführt.

2.2.2 PD-Messung

Die Potentialdifferenz (PD) wurde über Kalomelelektroden (Fa. Ingold, Typ 303), die über gesättigte KCl-Agar-Heber (Abb. 1, 3, 4) mit der Perfusionsflüssigkeit unmittelbar an der Cornea in Verbindung standen, abgeleitet und mit einem Voltmeter (Fa. Knick, Typ mV 37) gemessen. Zu Beginn und am Ende eines Versuches wurde jeweils das Asymmetriepotential der Kalomelelektroden alleine und der Kalomelelektroden mit Heber gemessen. Es wurden nur solche Elektroden und Heber verwandt, bei denen das Asymmetriepotential unter 0,5 mV lag.

2.2.3 SCC-Messung*

Der Kurzschlußstrom wurde über Ag/AgCl-Elektroden, die mit KCl-Agar-Hebern corneafern (Abb. 1, 1,2) in Verbindung standen, erzeugt. Spannungsquelle war eine handelsübliche 1,5 Volt Trockenbatterie, deren Stromabgabe über einen handregelbaren Spannungsteiler gesteuert wurde und dann von einem Mikroamperemeter (Fa. Neuberger, Typ RkD 114) gemessen wurde. Es wurden nur solche Ag/AgCl-Elektroden verwandt, deren Asymmetriepotential unter 1,0 mV lag.

---

* Für Kurzschlußstrom wurde die international übliche Bezeichnung SCC (short circuit current) gewählt.

2.2.4 pH-Messung

Die pH-Messung innerhalb der Kammern erfolgte mit einer Glaselektrode (Fa. Ingold) über ein pH-Meter (Fa. Hillerkus). Der pH-Wert der Lösungen in den Kammern wurde zwischen 7,4 und 7,6 konstant gehalten.

2.3 Perfusionslösung

Nach dem Einspannen der Cornea wurden die Kammerhälften über die zuführenden Trichter mit 6 ml Ringerlösung gefüllt (Wärmetauscher mit Zu- und Ableitungen miteinbezogen).

Die dem Kammerwasser entsprechende Lösung hatte folgende Zusammensetzung:

NaCl	118,5	mMol/l
KCl	4,1	"
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	0,7	"
KH_2PO_4	1,2	"
Glucose	5,1	"
$CaCl_2$	1,7	"
$NaHCO_3$	26,2	"

Die Osmolarität der Lösung betrug 305 bis 315 mOsm/l. Vor Gebrauch wurden der Lösung 0,1 mg/ml Penicillin und 0,1 mg/ml Streptomycin zugesetzt, um eine Bakterienbesiedelung zu verhindern. Die Perfusionslösung wurde bei einer Temperatur von 32 bis 34 Grad Celsius, die der in den Kammern entsprach, aufbewahrt und entsprechend der Lösung in den Kammern mit einem Gasgemisch aus 5 % Kohlensäure und 95 % Preßluft durchperlt.

2.4 Versuchsdurchführung

Nach Einbringen der Corneae in die Kammern wurden diese mit Perfusionslösung gefüllt und anschließend PD und SCC gemessen und registriert. Die Corneae waren während der gesamten Versuchsdauer kurzgeschlossen, lediglich zur Registrierung der PD alle 10 Minuten wurde der Stromkreis geöffnet (ca. 30 bis 60 Sekunden lang).

2.4.1 Isotope

Zur Bestimmung des Nettotransportes von Natrium und Chlorid verwendeten wir radioaktive Isotope: ^{22}Na, einen beta- und gamma-Strahler (Fa. New England Nuclear Corp.: $^{22}NaCl$ in H_2O, spez. Akt. 2,54 · mCi/ml) und ^{36}Cl, einen beta-Strahler (obige Firma: ^{36}HCl in 2,41 n HCl, neutralisiert mit NaOH, spez. Akt. 0,374 mCi/ml). Diese wurden in Kammer I der Endothelseite der Cornea zugesetzt, in Kammer II der Epithelseite, um auf diese Weise nach einer gewissen Versuchsanzahl eine Aussage über den Nettotransport treffen zu können. Zunächst wurde ^{22}Na in einer Konzentration von 25 uCi/6 ml Kammerwasser in die entsprechende Kammerhälfte pipettiert. Nach Durchmischung des Isotops mit der Perfusionslösung wurden zur Bestimmung der Standard-Radioaktivität 4 x 10 ul der Lösung entnommen, zweimal für die Messung im beta-Zähler (vermischt mit 1 ml H_2O und 10 ml Szintillationslösung), zweimal für die Messung im gamma-Zähler (vermischt mit 3 ml H_2O). Anschließend wurde das radioaktiv markierte Chlorid in einer Konzentration von ca. 7,6 uCi/6 ml Kammerwasser hinzugegeben und nach Verteilung im Kammerwasser dasselbe Verfahren wie oben zur Bestimmung der Radioaktivität angewandt.

Die Badlösung der jeweils nicht mit radioaktiven Isotopen beschickten Kammerhälfte wurde nun abgesaugt, die Hälfte gründlich gespült und mit frischer Perfusionslösung gefüllt, um vor Beginn der darauf folgenden 1. Meßperiode den bereits stattgefundenen Transport von radioaktiv markierten Ionen zu eliminieren.

Die 1. Meßperiode dauerte eine Stunde lang und diente in allen folgenden drei Versuchsreihen der Ermittlung von Kontrollwerten für PD, SCC und Na- und Cl-Nettotransport. Nach jeder, immer eine Stunde dauernden Meßperiode, wurden die "nicht-heißen" Kammerhälften abgesaugt und zur Aktivitätsmessung im beta-Zähler einmal 1 ml Lösung plus 10 ml Szintillationslösung verwendet, zur Messung im gamma-Zähler einmal 3 ml der Lösung.

2.4.2 Versuche zur Ermittlung von Kontrollwerten

Eine erste Versuchsreihe sollte zeigen, wie sich SCC, PD und Natrium- und Chlorid-Transport im Verlauf von drei Meßperioden (drei Stunden) verhielten.

2.4.3 Versuche mit c-AMP

In der zweiten Versuchsreihe beschickten wir in der zweiten Meßperiode beide Kammerhälften mit zyklischem AMP (Fa. Boehringer Mannheim, MG 347,2) in einer Konzentration von 10^{-3} M. Hierzu entnahmen wir vorher etwas Flüssigkeit aus jeder Kammerhälfte, um das c-AMP darin zu lösen. In der dritten Meßperiode gaben wir das c-AMP nur zu der Kammerhälfte, deren Badlösung wir zur Bestimmung der Isotopenfluxe entfernt hatten.

2.4.4 Versuche mit Noradrenalin

In einer dritten Versuchsreihe führten wir die 2. und 3. Meßperiode unter Zugabe von 10^{-5} M Noradrenalin (Fa. Hoechst Frankfurt: Arterenol-Bitartrat, MG 337,29) gelöst in physiologischer Kochsalzlösung durch, einem Stimulator der Adenylcyclase, die ATP in zyklisches AMP überführt. Auf Grund der Instabilität des Noradrenalins gaben wir es alle 15 Minuten neu zu beiden Kammerhälften hinzu.

2.5 Versuchsauswertung

2.5.1 Kurzschlußstrom

Der von uns gemessene Kurzschlußstrom bezog sich auf 0,33 cm^2 Corneaoberfläche. Die erhaltenen Werte wurden auf 1 cm^2 umgerechnet.

Wäre an der Cornea nur ein aktives Transportsystem vorhanden, so ließe sich aus der Kurzschlußstromdichte die Zahl der pro Zeit und cm^2 vom Epithel transportierten Ionen nach folgender Formel berechnen:

$$\phi_{netto}\ \left(\frac{\text{Äq}}{cm^2 \cdot sec}\right) = \frac{SCC\ (Asec \cdot sec^{-1})}{A\ (cm^2) \cdot F\ (Asec \cdot Äq^{-1})}$$

wobei ϕ_{netto} = Nettoflux eines Ions
F = Faradaykonstante (96500)
A = Fläche

Die nach dieser Formel berechneten Nettoflüsse stimmen bei der Cornea nicht mit den mit Hilfe von Isotopen gewonnenen Fluxen überein, sondern liegen meist niedriger (siehe Tab. 1, 2, 3). Dies zeigt, daß an der Cornea mehr als ein Ion aktiv transportiert wird und daß der Kurzschlußstrom an der Cornea nicht zur Charakterisierung

eines individuellen Ionentransportes herangezogen werden kann.

2.5.2 Potentialdifferenz

Als PD wird der von uns am Voltmeter direkt abgelesene Wert angegeben, ohne Berücksichtigung des Asymmetriepotentials, da dieses während des Versuches selber nicht gemessen werden konnte. Es wurde jedoch darauf geachtet, daß das Asymmetriepotential der Kalomelelektroden mit Heber vor und nach dem Versuch unter 0,5 mV lag und damit konstant blieb.

2.5.3 Widerstand

Der Widerstand (R) wurde aus Potentialdifferenz und Kurzschlußstrom nach dem Ohm'schen Gesetz errechnet:

$$R = \frac{PD}{SCC} \; (k \cdot cm^2)$$

Die so berechneten Werte zeigten keinen Unterschied gegenüber Werten, die direkt durch Stromapplikation gemessen wurden.

2.5.4 Unidirektionale Flüsse

Zur Bestimmung der unidirektionalen Flüsse mußten zunächst die nach jeder Meßperiode entnommenen radioaktiven Proben in beta- und gamma-Zählern (Fa. Packard Tri-Carb Szintillation Spectrometer, Packard Auto-gamma Spectrometer) gemessen werden. Die Proben wurden fünf Minuten lang gezählt. Meßwerte, die oberhalb des dreifachen Nullwertes lagen, wurden als signifikant unterschiedlich vom Nullwert angesehen. Zur Berechnung

der Flüsse wurde folgende Formel verwandt:

$$F_{i(a)} = \frac{V_i \cdot c_a \cdot \triangle n_i}{A \cdot t \cdot n_a}$$

F_i = Flux von außen (Epithel) nach innen (Endothel)
F_a = Flux von innen nach außen
V_i = Volumen Innenseite (ml)
c_a = Na (oder Cl) - Konzentration außen (uÄq/ml)
$\triangle n_i$ = Anstieg von ^{22}Na (bzw. ^{36}Cl) -Aktivität innen (cpm/ml)
A = Fläche (cm^2)
t = Zeit (h)
n_a = Aktivität von ^{22}Na (bzw. ^{36}Cl) -Aktivität außen

Die Berechnung der Fluxe erfolgte bei uns mit Hilfe eines FOCAL-Programms an einem PDP-8-Rechner.
Der Nettoflux ergab sich aus

$$\phi_{netto} = F_i - F_a$$

2.5.5 Statistik

Für alle Mittelwerte wurde der mittlere Fehler des Mittelwertes berechnet (SE). Die Beurteilung der Unterschiede zweier Mittelwerte erfolgte mit Hilfe des t-Testes.

3.0 Ergebnisse

3.1 Kontrollwerte

3.1.1 PD

In der Kontrollgruppe wurde die Potentialdifferenz an 13 Corneae gemessen. Während der ersten Meßperiode von einer Stunde erhielten wir einen Mittelwert (± SE) von -1,67

(± 0,64) mV. Dabei war das Epithel der Cornea negativ gegenüber dem Endothel. In der zweiten Stunde betrug der Mittelwert -2,0 (± 0,61) mV, in der dritten Stunde - 2,18 (± 0,64) mV; das Epithel blieb negativ gepolt (siehe Tab. 1).

Alle drei Werte sind voneinander nicht signifikant verschieden. Sie stimmen in der Größenordnung mit den von Fischer et al. (22) bei pH 7,6 gefundenen überein.

3.1.2 SCC

Der Kurzschlußstrom betrug an 13 Corneae in der ersten Stunde 1,25 ± 0,32 uA·cm^{-2}, in der zweiten Stunde 1,47 ± 0,35 uA·cm^{-2} und in der dritten Stunde 1,54 ± 0,35 uA·cm^{-2} (siehe Tab. 1).
Diese Werte zeigen untereinander keine signifikante Abweichung. Sie stimmen wiederum mit den von Fischer et al. (22) bei pH 7,6 gefundenen überein (vgl. auch Abb. 2).

3.1.3 Isotopenfluxe

3.1.3.1 Natriumflux

In der ersten Stunde ergab sich für Natrium ein mittlerer Flux von 0,63 ± 0,12 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} vom Epithel zum Endothel, das heißt von der Tränenflüssigkeit zum Kammerwasser (7 Corneae) und ein Flux von 0,6 ± 0,13 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} vom Endothel zum Epithel (6 Corneae). Es resultierte ein Nettoflux von 0,03 ± 0,24 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}, der in Richtung vom Epithel zum Endothel verlief.

In der zweiten Stunde betrug der Natriumflux vom Epithel zum Endothel 0,59 ± 0,09 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}, vom Endothel zum Epithel 0,46 ± 0,09 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} mit einem Nettoflux von 0,13 ± 0,2 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}, der die Richtung vom Epithel zum Endothel nahm.

In der dritten Stunde fanden wir einen Flux vom Epithel zum Endothel von 0,58 ± 0,09 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}, vom Endothel zum Epithel vom 0,65± 0,15 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}. Der resultierende Nettoflux betrug 0,07 ± 0,24 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}. Er verlief vom Endothel zum Epithel (siehe Tab. 1).

Die Werte für die unidirektionalen Flüsse sind in den verschiedenen Perioden untereinander nicht signifikant verschieden, und die Werte für die Nettofluxe sind nicht signifikant verschieden vom Nettoflux Null. Deshalb läßt sich über die Richtung des Nettotransportes in der Kontrollgruppe keine definitive Aussage treffen.

3.1.3.2 Chloridflux

Die Versuche wurden an drei bis sechs Cornea-Paaren durchgeführt. Die Mittelwerte lagen für den unidirektionalen Cl-Flux vom Epithel zum Endothel in der ersten Stunde bei 0,28 ± 0,08 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}, vom Endothel zum Epithel bei 0,38 ± 0,08 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}. Der Nettoflux betrug 0,1 ± 0,16 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} vom Endothel zum Epithel. In der zweiten Stunde flossen 0,32 ± 0,07 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} Chloridionen vom Epithel zum Endothel und 0,66 ± 0,32 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} vom Endothel zum Epithel, wobei der Nettoflux 0,34 ± 0,24 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} mit Richtung vom Endothel zum Epithel betrug.

In der dritten Stunde erhielten wir bei unidirektionalen Fluxen von 0,38 ± 0,17 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} vom Epithel zum Endothel und 0,37 ± 0,17 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} vom Endothel zum Epithel einen Nettoflux von 0,01 ± 0,15 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} vom Epithel zum Endothel (siehe Tab. 1).

Auch in diesem Fall waren die Meßwerte für die unidirektionalen Fluxe untereinander nicht signifikant verschieden und die Nettofluxe in den einzelnen Perioden nicht vom Flux Null signifikant verschieden.

3.2 c-AMP-Gruppe

3.2.1 PD

In der ersten Meßperiode, in der ohne Zugabe von c-AMP gemessen wurde, betrug die mittlere PD für 34 Corneae -2,44 (± 0,49) mV. In der zweiten Meßperiode, während der die Corneae eine Stunde lang mit c-AMP in einer Konzentration von 10^{-3} M inkubiert wurden, betrug der Wert -3,28 (± 0,71) mV (33 Corneae). Dies entspricht einer Steigerung von 34,4 % gegenüber dem Ausgangswert. In der dritten Meßperiode, in der das c-AMP weiter vorhanden war, erreichte die PD einen Wert von -3,42 ± 0,77m (32 Corneae) und lag damit 40,3 % über dem Ausgangswert. Das Epithel war gegenüber dem Endothel jeweils negativ gepolt. Die Mittelwerte aller Corneae sind in den drei Meßperioden nicht signifikant voneinander verschieden, obwohl in der zweiten und dritten Periode eine Tendenz zum Anstieg sichtbar wird (siehe Tab. 2). Bestimmt man hingegen für jede einzelne Cornea die absolute Änderung der PD in den verschiedenen Meßperioden und vergleicht den daraus gewonnenen mittleren Anstieg mit dem Wert Null, so ergibt sich ein signifikanter Anstieg zwischen Periode I und II ($p < 0,025$) und zwischen Periode II und III

($p < 0{,}0125$). Die PD zwischen Periode II und III ist nicht signifikant verschieden.

3.2.2 SCC

Der Kurzschlußstrom betrug in der ersten Meßperiode $1{,}43 \pm 0{,}14$ uA·cm^{-2} und lag damit in der Größenordnung der Kontrollwerte. In der zweiten Meßperiode unter c-AMP stieg er auf $2{,}14 \pm 0{,}21$ uA·cm^{-2} und lag damit 49,7 % höher als in der ersten Meßperiode.

In der dritten Meßperiode, weiterhin unter c-AMP, erreichte er einen Wert von $2{,}32 \pm 0{,}27$ uA·cm^{-2}, entsprechend einer Zunahme von 62,2 % gegenüber dem Ausgangswert (siehe Tab. 2).

Der Anstieg des SCC machte sich in den ersten 5 bis 10 Minuten bemerkbar. Die Messungen stammen von jeweils 32 bis 34 Corneae. Die beiden unter c-AMP gemessenen Werte sind signifikant höher als der Ausgangswert in der ersten Stunde ($p < 0{,}05$). Der in der dritten Stunde erreichte Wert ist von dem in der zweiten Stunde nicht signifikant verschieden (vgl. auch Abb. 3).

3.2.3 Isotopenfluxe

3.2.3.1 Natriumflux

Der unidirektionale Natriumflux vom Epithel zum Endothel betrug in der ersten Stunde (ohne c-AMP) für 17 Corneae $0{,}89 \pm 0{,}18$ uÄq·cm^{-2}·h^{-1}. Vom Endothel zum Epithel lag er bei $0{,}84 \pm 0{,}27$ uÄq·cm^{-2}·h^{-1} (ebenfalls 17 Corneae), so daß ein Nettoflux von $0{,}05 \pm 0{,}23$ uÄq·cm^{-2}·h^{-1} mit Richtung vom Epithel zum Endothel resultierte. Dieser Wert entspricht

ungefähr dem Na-Nettoflux der Kontrollgruppe und ist wie dieser von Null nicht signifikant verschieden.

In der zweiten Stunde (mit 10^{-3} M c-AMP) erhielten wir in Richtung vom Epithel zum Endothel einen Flux von 0,61 ± 0,09 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} (17 Corneae), in umgekehrter Richtung einen Flux von 1,26 ± 0,29 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} (16 Corneae), so daß ein Nettoflux von 0,65 ± 0,22 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} vom Endothel zum Epithel entstand. Dieser Wert ist signifikant verschieden vom Nettoflux Null und liegt auch signifikant höher als der Ausgangswert der ersten Stunde ($p < 0,05$).

In der dritten Stunde (2 Stunden mit 10^{-3} M c-AMP) betrug der Wert für den Natriumflux vom Epithel zum Endothel 0,62 ± 0,06 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} und für die umgekehrte Richtung 0,98 ± 0,28 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}, so daß ein Nettoflux in Höhe von 0,36 ± 0,21 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} vom Endothel zum Epithel resultierte. Ein signifikanter Unterschied zum Ausgangswert ließ sich nicht ermitteln (vgl. Tab. 2).

3.2.3.2 Chloridflux

Der Chloridflux vom Epithel zum Endothel betrug in der ersten Stunde (ohne c-AMP) 0,54 ± 0,15 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} (16 Corneae), in umgekehrter Richtung 0,46 ± 0,15 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} (16 Corneae). Es ergab sich ein Nettoflux von 0,08 ± 0,14 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} vom Epithel zum Endothel. Dieser Wert entspricht den Werten der Kontrollgruppe. Da er von Null nicht signifikant verschieden ist, fällt auch die Richtungsumkehr des Transportes nicht ins Gewicht.

In der zweiten Stunde (1 Stunde mit c-AMP) erhielten wir einen Cl-Nettoflux vom Endothel zum Epithel in Höhe von 0,88 ± 0,27 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} bei einem unidirektionalen Fluß von 0,36 ± 0,07 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} (Epithel → Endothel), bzw. 1,24 ± 0,37 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} (Endothel → Epithel). Dieser Wert ist signifikant verschieden von Null und vom Ausgangswert ($p < 0,05$).

In der dritten Stunde (2 Stunden mit c-AMP) betrug der Nettoflux noch 0,53 ± 0,25 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}, ebenfalls in Richtung vom Endothel zum Epithel. Der unidirektionale Fluß vom Epithel zum Endothel betrug 0,44 ± 0,07, vom Endothel zum Epithel 0,97 ± 0,34 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} (vgl. Tab. 2).

Der Nettoflux war nicht signifikant höher als der Ausgangsflux der ersten Stunde.

3.3 Noradrenalin

3.3.1 PD

An 20 Corneae maßen wir in der ersten Stunde eine mittlere PD von + 0,65 ± 0,42 mV, Epithel positiv gegenüber Endothel. In der zweiten Stunde betrug der Wert unter Zugabe von 10^{-5} M Noradrenalin - 0,2 ± 0,34 mV, Epithel negativ gegenüber Endothel. In der dritten Stunde (2 Stunden mit 10^{-5} M Noradrenalin) erreichten wir - 0,15 ± 0,27 mV (Epithel negativ). (Vgl. Tab. 3).

Die offensichtlich von den Kontrollwerten und den Werten der c-AMP-Gruppe abweichenden Ergebnisse kamen dadurch zustande, daß einzelne Corneae eine Potentialdifferenz aufwiesen mit positivem Epithel. Positive Potentialdifferenzen waren auch in den anderen Gruppen vereinzelt aufgetreten, in der Adrenalin-Gruppe waren die positiven Werte jedoch so hoch, daß sie zu oben angegebenen Mittelwerten führten (PD_{max} + 5,06 mV).

Alle drei Werte sind nicht signifikant voneinander verschieden, es sei denn man betrachtet wieder den mittleren Anstieg der PD zwischen den Perioden I bis III. Dann ergibt sich wie in der c-AMP-Gruppe eine signifikante Änderung der PD zwischen Periode I und II und Periode I und III.

3.3.2 SCC

Der Kurzschlußstrom hatte in der ersten Stunde einen Wert von 1,32 $\pm$ 0,57 uA$\cdot$cm^{-2} und lag damit in derselben Größenordnung wie die SCC-Werte der ersten Stunde in den anderen Versuchsgruppen. In der zweiten Stunde betrug der SCC 0,96 $\pm$ 0,33 uA$\cdot$cm^{-2}, in der dritten Stunde 0,84 $\pm$ 0,24 uA$\cdot$cm^{-2}, zweite und dritte Stunde jeweils unter 10^{-5} M Noradrenalin (siehe Tab. 3).

Die Werte der einzelnen Perioden zeigen keine signifikante Abweichung untereinander.

Von den insgesamt 20 Corneae der Noradrenalin-Gruppe kam es in vier Einzelversuchen zu einem Anstieg des SCC in der zweiten Meßperiode (siehe Abb. 4), der innerhalb der Einzelversuche eine statistische Signifikanz aufwies. Eine Gruppenbildung dieser SCC-Werte ergab allerdings wegen der großen Streuung keine statistisch signifikante Zunahme der Mittelwerte der zweiten und dritten Periode gegenüber dem Ausgangswert.

3.3.3 Isotopenfluxe

3.3.3.1 Natriumflux

Der Nettoflux von Natrium betrug in der ersten Stunde (ohne Noradrenalin) 0,15 $\pm$ 0,25 uÄq$\cdot$cm$^{-2}\cdot$h^{-1} mit Richtung vom Epithel zum Endothel, wobei der unidirektionale Flux in derselben Richtung 0,85 $\pm$ 0,14 uÄq$\cdot$cm$^{-2}\cdot$h^{-1} un in der umgekehrten Richtung 0,7 $\pm$ 0,29 uÄq$\cdot$cm$^{-2}\cdot$h^{-1} betrug.

In der zweiten Stunde erhielten wir einen Nettoflux in Höhe von 0,17 ± 0,17 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} vom Epithel zum Endothel bei einem unidirektionalen Fluß von 0,61 ± 0,12 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} vom Epithel zum Endothel und einem umgekehrten Flux von 0,44 ± 0,08 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}. In der dritten Stunde (2 Stunden unter Noradrenalin) resultierte bei einem unidirektionalen Fluß vom Epithel zum Endothel von 0,56 ± 0,07 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} und vom Endothel zum Epithel von 0,64 ± 0,18 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} ein Nettoflux von 0,08 ± 0,19 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}, der vom Endothel zum Epithel verlief (siehe Tab. 3). Die Na-Nettofluxe entsprechen denen in der Kontrollgruppe. Sie zeigen untereinander keine signifikante Abweichung.

3.3.3.2 Chloridflux

Der Chlorid-Nettoflux ging in allen drei Meßperioden vom Endothel zum Epithel. In der ersten Stunde erreichte er einen Wert von 0,29 ± 0,14 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} bei unidirektionalen Flüssen von 0,22 ± 0,07 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} (vom Epithel zum Endothel), bzw. 0,51 ± 0,33 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} (vom Endothel zum Epithel).

In der zweiten Stunde lag der Cl-Nettoflux bei 0,04 ± 0,08 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}, in der dritten Stunde bei 0,24 ± 0,13 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}. Die unidirektionalen Fluxe vom Epithel zum Endothel betrugen 0,23 ± 0,04 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} in der zweiten, 0,28 ± 0,04 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} in der dritten Stunde. Die unidirektionalen Flüsse vom Endothel zum Epithel lagen bei 0,27 ± 0,08 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} in der zweiten und bei 0,52 ± 0,19 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} in der dritten Stunde (siehe Tab. 3).

Diese Werte entsprechen in der Größenordnung den Kontrollwerten. Sie sind untereinander nicht signifikant verschieden.

Tabelle 1: Potentialdifferenz, Kurzschlußstrom und Isotopenflux von Natrium und Chlorid an der isolierten menschlichen Cornea unter Kontrollbedingungen (n = 13)

Kontrollwerte		1 h	2 h	3 h
Potentialdifferenz mV		- 1,67 ± 0,64	- 2,00 ± 0,61	- 2,18 ± 0,64
Kurzschlußstrom uA·cm^{-2}		1,25 ± 0,32	1,47 ± 0,35	1,54 ± 0,35
Widerstand k Ω ·cm^{2}		1,34	1,36	1,42
Na-Flux uÄq·cm^{-2}·h^{-1}	Epi → Endo	0,63 ± 0,12	0,59 ± 0,09	0,58 ± 0,09
	Endo → Epi	0,60 ± 0,13	0,46 ± 0,09	0,65 ± 0,15
	netto	0,03 ± 0,24 (Epi → Endo)	0,13 ± 0,20 (Epi → Endo)	0,07 ± 0,24 (Endo → Epi)
Cl-Flux uÄq·cm^{-2}·h^{-1}	Epi → Endo	0,28 ± 0,08	0,32 ± 0,07	0,38 ± 0,17
	Endo → Epi	0,38 ± 0,08	0,66 ± 0,32	0,37 ± 0,17
	netto	0,10 ± 0,16 (Endo → Epi)	0,34 ± 0,24 (Endo → Epi)	0,01 ± 0,15 (Epi → Endo)
Nettoflux berechnet aus SCC uÄq·cm^{-2}·h^{-1}		0,047	0,055	0,057

Tabelle 2: Potentialdifferenz, Kurzschlußstrom und Isotopenflux von Natrium und Chlorid an der isolierten menschlichen Cornea nach Zugabe von 10^{-3} M c-AMP (n = 32 - 34)

c-AMP-Gruppe		1 h	2 h (1 h mit c-AMP)	3 h (2 h mit c-AMP)
Potentialdifferenz mV		- 2,44 ± 0,49	- 3,28 ± 0,71	- 3,42 ± 0,77
Kurzschlußstrom uA·cm^{-2}		1,43 ± 0,14	2,14 ± 0,21	2,32 ± 0,27
Widerstand kΩ·cm^{2}		1,71	1,53	1,47
Na-Flux uÄq·cm^{-2}·h^{-1}	Epi → Endo	0,89 ± 0,18	0,61 ± 0,09	0,62 ± 0,06
	Endo → Epi	0,84 ± 0,27	1,26 ± 0,29	0,98 ± 0,28
	netto	0,05 ± 0,23 (Epi → Endo)	0,65 ± 0,22 (Endo → Epi)	0,36 ± 0,21 (Endo → Epi)
Cl-Flux uÄq·cm^{-2}·h^{-1}	Epi → Endo	0,54 ± 0,14	0,36 ± 0,07	0,44 ± 0,07
	Endo → Epi	0,46 ± 0,15	1,24 ± 0,37	0,97 ± 0,34
	netto	0,08 ± 0,14 (Epi → Endo)	0,88 ± 0,27 (Endo → Epi)	0,53 ± 0,25 (Endo → Epi)
Nettoflux berechnet aus SCC uÄq·cm^{-2}·h^{-1}		0,053	0,080	0,087

Tabelle 3: Potentialdifferenz, Kurzschlußstrom und Isotopenflux von Natrium und Chlorid an der isolierten menschlichen Cornea nach Zugabe von 10^{-5} M Noradrenalin (n = 20)

Noradrenalin-Gruppe		1 h	2 h (1h mit Noradrenalin)	3 h (2h mit Noradrenalin)
Potentialdifferenz mV		+ 0,65 ± 0,42	- 0,20 ± 0,34	- 0,15 ± 0,27
Kurzschlußstrom uA·cm^{-2}		1,32 ± 0,57	0,96 ± 0,33	0,84 ± 0,24
Widerstand k ·cm^{2}		0,49	0,21	0,18
Na-Flux uÄq·cm^{-2}·h^{-1}	Epi - Endo	0,85 ± 0,14	0,61 ± 0,12	0,56 ± 0,07
	Endo - Epi	0,70 ± 0,29	0,44 ± 0,08	0,64 ± 0,18
	netto	0,15 ± 0,25 (Epi − Endo)	0,17 ± 0,17 (Epi − Endo)	0,08 ± 0,19 (Endo − Epi)
Cl-Flux uÄq·cm^{-2}·h^{-1}	Epi - Endo	0,22 ± 0,07	0,23 ± 0,04	0,28 ± 0,04
	Endo - Epi	0,51 ± 0,33	0,27 ± 0,08	0,52 ± 0,19
	netto	0,29 ± 0,14 (Endo − Epi)	0,04 ± 0,08 (Endo − Epi)	0,24 ± 0,13 (Endo − Epi)
Nettoflux berechnet aus SCC uÄq·cm^{-2}·h^{-1}		0,050	0,036	0,031

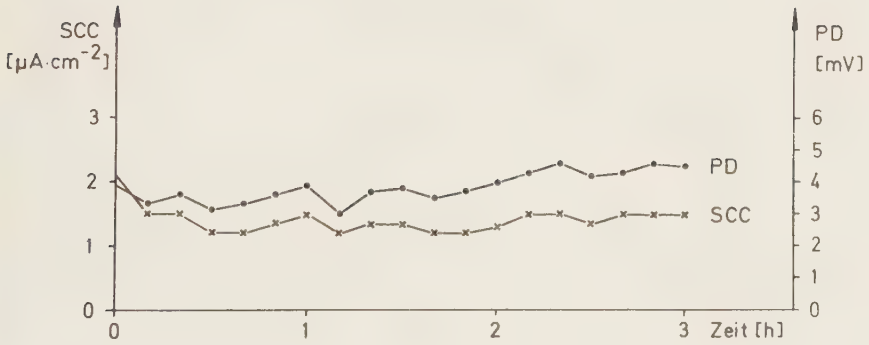

Abb. 2: Zeitlicher Verlauf von Potentialdifferenz und Kurzschlußstrom unter Kontrollbedingungen (Einzelversuch).

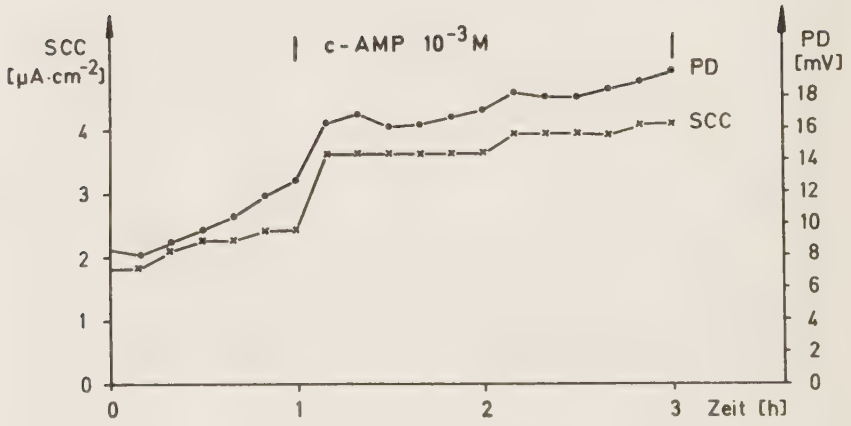

Abb. 3: Zeitlicher Verlauf von Potentialdifferenz und Kurzschlußstrom nach Zugabe von 10^{-3} M c-AMP (Einzelversuch)

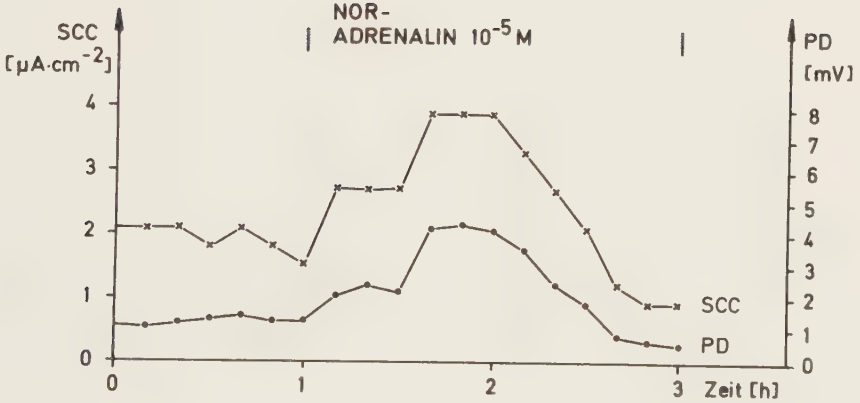

Abb. 4: Zeitlicher Verlauf von Potentialdifferenz und Kurzschlußstrom nach Zugabe von 10^{-5} M Noradrenalin (Einzelversuch)

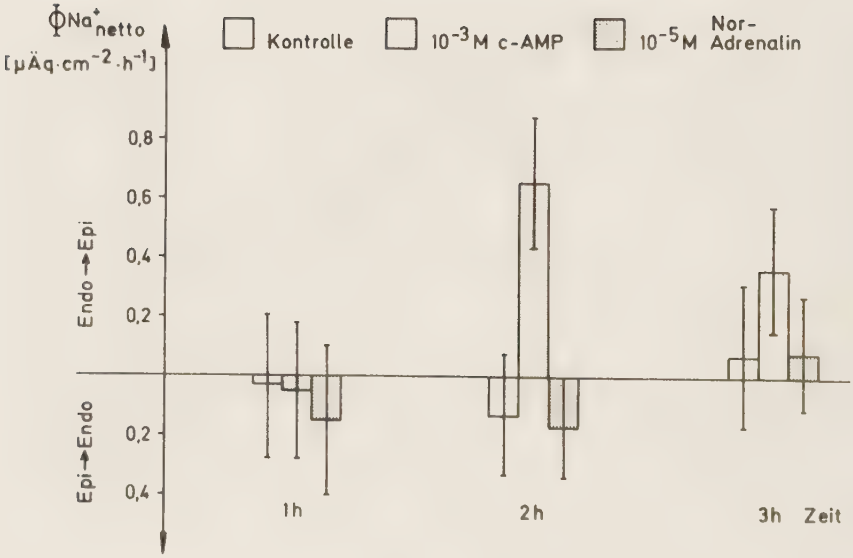

Abb. 5: Nettoflux von Natrium unter Kontrollbedingungen nach Zugabe von 10^{-3} M c-AMP und nach Zugabe von 10^{-5} M Noradrenalin

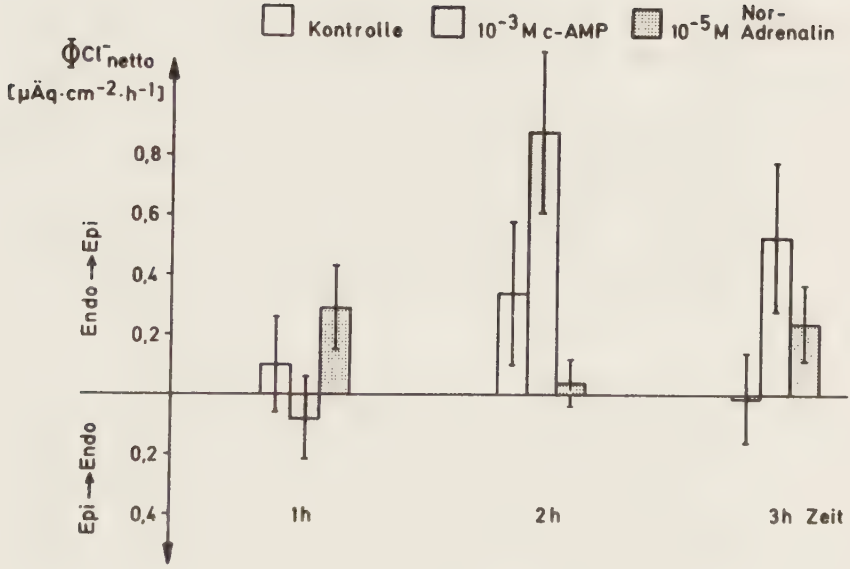

Abb. 6: Nettoflux von Chlorid unter Kontrollbedingungen, nach Zugabe von 10^{-3} M c-AMP und nach Zugabe von 10^{-5} M Noradrenalin.

4.0 Diskussion

c-AMP ist bekannt als "second messenger" einer Reihe von Hormonwirkungen und beeinflußt als solcher verschiedene zelluläre Funktionen (56). c-AMP wird durch die katalytische Wirkung der Adenylcyclase gebildet, eines spezifischen Enzyms, das vorwiegend in Zellmembranen lokalisiert ist (vgl. Abb. 7). Die verschiedenen Hormone, z.B. die Katecholamine, Glucagon, Corticotropin, Vasopressin und andere, üben ihre vielfältigen Wirkungen über die Stimulierung des Adenylcyclasesystems aus. Auf welche besonderen intrazellulären Systeme c-AMP dann jeweils seine spezifische Wirkung ausübt, ist bis auf die Steuerung der Aktivität einer Reihe stoffwechselregulierender Enzyme nicht im einzelnen geklärt. Außerdem scheint c-AMP eine zentrale Rolle in der Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes zu spielen (51).

An der isolierten menschlichen Cornea konnten wir eine Stimulierung des Na- und Cl-Transportes vom Endothel zum Epithel und des Kurzschlußstroms (SCC) als der Parameter für das Vorhandensein aktiver Transporte nachweisen. Unter der Zugabe von c-AMP verlief die Richtung des Transportes vom Endothel zum Epithel. Da man annehmen kann, daß die Konzentration von c-AMP am intakten Auge höher ist als an der erst nach einigen Stunden nach dem Tod des Trägers entnommenen Cornea, läßt sich auf einen Nettotransport unter normalen in-vivo-Bedingungen vom Endothel zum Epithel schließen. Dafür spricht auch, daß der c-AMP-Gehalt der Cornea am frisch entnommenen Auge höher ist als nach einiger Zeit der Inkubation (39).

Die Erhöhung des SCC unter c-AMP war insgesamt nicht von einer entsprechenden Erhöhung der Potentialdifferenz (PD) begleitet. Da sich aber innerhalb der Einzelversuche ein

signifikanter Anstieg der Potentialdifferenz nachweisen ließ und sich der Widerstand daher nicht wesentlich veränderte, muß man annehmen, daß für die Wirkung des c-AMP keine Permeabilitätsänderung der Cornea für Natrium und Chlorid im Vordergrund steht, sondern wahrscheinlich eine Steigerung der Aktivität der Pumpen in Frage kommt.

Hier ergeben sich Unterschiede zu Untersuchungen mit c-AMP an der Kaninchen- und Froschcornea. Klyce et al. (39) und Chalfie et al. (7) fanden ebenso wie wir eine Stimulierung des SCC und des Cl-Transportes vom Endothel zum Epithel unter c-AMP. Da dies gleichzeitig mit einer Abnahme des Widerstandes verbunden war, scheint eine primäre Wirkung des c-AMP an diesen Epithelien eine Änderung der Cl-Permeabilität mit sekundärer Stimulierung der Chlorid-Pumpe zu sein. Ein weiterer Unterschied zur menschlichen Cornea besteht darin, daß ein Natrium-Transport an den Tiercorneae zwar vorhanden ist, aber in die umgekehrte Richtung verläuft und nicht durch c-AMP stimulierbar ist.

Auf die verschiedenen Wirkungsmöglichkeiten des c-AMP wurde bereits oben hingewiesen. Daß c-AMP Ionentransporte und Permeabilität einer Membran sogar unabhängig voneinander beeinflussen kann, zeigt das Beispiel der Krötenblase. Inkubation mit c-AMP führt dort zu einer Steigerung des SCC, der PD und des Natrium- und Wassertransportes (50). Letzterer wird aber auch im Na-freien Medium und mit Hemmern des Na-Transportes stimuliert (18). Der Einfluß des c-AMP auf Ionentransport und Permeabilität läßt sich auch an einigen anderen Geweben, wie zum Beispiel Froschhaut (2) und Magen- und Darmmukosa (19, 31) nachweisen.

Inkubation mit 10^{-5} M Noradrenalin führte bei der menschlichen Cornea nur in einzelnen Experimenten zu einer Steigerung von SCC und Ionenfluxen, obwohl in vitro-Unter-

suchungen an menschlichen Corneae eine beträchtliche Steigerung des c-AMP-Gehaltes nach 15-minütiger Inkubation mit Noradrenalin ergeben (49). Montoreano et al. (48) konnten dagegen an der Froschcornea regelmäßig eine Erhöhung des SCC um durchschnittlich 70 % nach Gabe von 10^{-5} M Noradrenalin nachweisen. Diese Stimulierung des SCC war, wie auch in unseren Versuchen, von kürzerer Dauer als die Stimulierung durch c-AMP. Sie konnte durch Gabe von beta-Rezeptorenblockern vollständig und durch Gabe von alpha-Rezeptorenblockern teilweise unterdrückt werden. Hieraus kann geschlossen werden, daß an der Cornea alpha- und beta-Rezeptoren vorhanden sind, über die die Wirkung von Noradrenalin zustandekommt. Klyce et al. (39) und Chalfie et al. (7) zeigten bereits früher an der Kaninchen- und an der Frosch-Cornea, daß Adrenalin als Vertreter der am Adenylcyclasesystem angreifenden Hormone seine Wirkung auf Kurzschlußstrom und Cl-Auswärtstransport in gleicher Weise wie c-AMP ausübt und daß Phosphodiesterasehemmer, die den Abbau des c-AMP hemmen, denselben Effekt haben. Die stimulierende Adrenalin-Wirkung auf SCC und Cl-Transport konnte auch an der Menschencornea nachgewiesen werden, (Fischer et al. in Vorbereitung). Montoreano zeigte an der Froschcornea, daß auch der Adrenalin-Effekt durch alpha- und beta-Blocker gehemmt werden kann. (48). Auch Adrenalin steigert den Gehalt an c-AMP der menschlichen Cornea nach 15-minütiger Inkubation, jedoch nur etwa um 61 % des Betrages den Noradrenalin erreicht (Noradrenalin von 1 Picomol c-AMP/mg Protein auf 62 Picomol/mg Protein und Adrenalin von 1 Picomol c-AMP/mg Protein auf 38 Picomol/mg Protein) (49).

Der Noradrenalin- als auch der Adrenalineffekt sind, soweit sie über c-AMP wirken, an das Vorhandensein eines intakten Adenylcyclasesystems und soweit sie auch an der menschlichen Cornea über alpha- und beta-Rezeptoren wirken,

an das Vorhandensein intakter Rezeptorstrukturen gebunden. Die Wahrscheinlichkeit, dieses vorzufinden, ist größer an direkt nach dem Tode des Spenders entnommenen und inkubierten Corneae als an Corneae, die bereits einige Stunden ohne Nährstoffe waren, wie dies bei unseren Corneae, die nach 2-6 Stunden entnommen wurden, der Fall war. So könnte das häufige Nichtansprechen unserer Cornea-Präparate auf Noradrenalin daran liegen, daß einige Stunden nach dem Tod des Organismus die Adenylcyclase oder die Rezeptorstrukturen bereits irreversibel geschädigt sind. Warum der Noradrenalineffekt in unseren positiven Experimenten als auch in den Tierversuchen nur von kürzerer Dauer als der c-AMP-Effekt ist, muß unbeantwortet bleiben.

Potentialdifferenz, Kurzschlußstrom und Ionentransporte wurden bereits früher an isolierten Corneae von Amphibien und Säugern, darunter auch an der isolierten menschlichen Cornea, gemessen.

Donn et al. (14, 15), Klyce (37), Green (27), Akaike und Hori (1), Ehlers und Ehlers (16, 17) sowie Friedman und Kupfer (24) und Fischer et al. (22) berichteten über eine elektrische Potentialdifferenz von 6 bis 40 mV an der Kaninchencornea. Dabei war das Epithel gegenüber dem Endothel negativ gepolt. Der Kurzschlußstrom betrug 4 bis 15 uA$\cdot$cm^{-2}. Donn et al.(15) wiesen bereits 1959 einen aktiven Na-Nettotransport in Höhe von etwa 0,1 uÄq$\cdot$cm$^{-2}\cdot$h^{-1} vom Epithel zum Endothel nach, der von Green (27) bestätigt wurde. Kürzlich konnten Klyce et al. (39) und van der Heyden et al.(35) außerdem eine Chloridpumpe im Epithel mit einer Transportrichtung vom Endothel zum Epithel nachweisen.

Zadunaisky (59) fand 1966 erstmals eine elektrische Potentialdifferenz über der Froschcornea in einer Größenordnung von 10 bis 60 mV mit negativ geladenem Epithel. Der SCC lag zwischen 9 und 40 uA$\cdot cm^{-2}$. In Übereinstimmung mit dem gemessenen SCC wurde ein Chlorid-Auswärtstransport (vom Endothel zum Epithel) in Höhe von 0,5 bis 0,7 uÄq$\cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$ nachgewiesen (59), der auch von Ploth und Hogben (52) und Candia (5) bestätigt wurde. Letzterer beschrieb zusammen mit Askew (6) überdies einen aktiven Natriumtransport, der in umgekehrter Richtung wie der Chloridtransport verlaufen sollte und der etwa 10 % des SCC ausmacht. Auch an der Rindercornea wurde eine Potentialdifferenz gefunden (42, 53), die von Lindemann mit 17 bis 28 mV angegeben wird.

Fischer et al. (22) konnten kürzlich eine Potentialdifferenz von durchschnittlich 1 bis 3 mV an der isolierten menschlichen Cornea bei pH 7,6 nachweisen, wobei das Epithel negativ gegenüber dem Endothel war. Der Kurzschlußstrom betrug 1 bis 3 uA$\cdot cm^{-2}$. An der Cornea vom Rhesusaffen wiesen sie ähnliche Werte nach. Diese Werte liegen in derselben Größenordnung wie die von uns hier vorgelegten Untersuchungen.

Fischer et al. fanden unter Kontrollbedingungen Nettofluxe von Natrium und Chlorid in Höhe von 0,1 bis 0,2 uÄq$\cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$, die in der Regel vom Endothel zum Epithel verliefen, jedoch von Null nicht signifikant verschieden waren. Auch diese Werte sind mit unseren Werten in den jeweiligen Kontrollperioden vergleichbar, obwohl wir über die Richtung des unstimulierten Nettotransportes an der isolierten Cornea keine Aussage treffen können, da auch unsere Werte von Null nicht signifikant verschieden waren.

Die an der Menschencornea gefundenen Werte für Potentialdifferenz, Kurzschlußstrom und Isotopenfluxe liegen im Vergleich zu den an Kaninchen und Frosch gemessenen Werten niedriger. Dies mag zum Teil daran liegen, daß die menschlichen Corneae erst einige Stunden nach dem Tod entnommen werden konnten, während die Tierversuche sofort begonnen wurden. Dies könnte auch die Tatsache erklären, daß sich an den unstimulierten Tiercorneae eine eindeutige Aussage über die Richtung des Nettotransportes von Natrium und Chlorid machen läßt.

An der menschlichen Cornea sind mehrere aktive Transportsysteme vorhanden als an den Corneae von Frosch und Kaninchen. Hier stimmen die mit Hilfe von Isotopen gewonnenen Nettofluxe weitgehend mit denen aus dem SCC errechneten überein, so daß man überwiegend mit nur einem aktiven Transportsystem rechnen muß; beim Frosch ist es der Chlorid-Transport vom Endothel zum Epithel (59, 6), beim Kaninchen der Natrium-Transport in die umgekehrte Richtung (15). Die anderen nachgewiesenen Transportsysteme spielen bei diesen Epithelien größenordnungsmäßig eine untergeordnete Rolle. Damit sind sie in eine Reihe mit anderen tierischen Epithelien wie Froschhaut und Krötenblase einzuordnen, an denen auch überwiegend nur ein aktives Transportsystem nachgewiesen wurde (40, 58).

An der Menschencornea sind dagegen mindestens zwei aktive Transportsysteme in ähnlicher Größenordnung vorhanden, nämlich ein Natrium- und ein Chloridtransport. Daneben müssen aber noch andere aktive Transporte bestehen, wie dies schon von Fischer et al. (22) vermutet wurde, da auch beide Ionenfluxe zusammen nicht mit dem aus dem SCC errechneten übereinstimmen (vgl. Tab. 1, 2, 3). Die Untersuchungen von Fischer et al. deuten darauf hin, daß es

sich hierbei um Bikarbonat und/oder H^+-Ionen handeln könnte.

Die vorliegenden Versuche, bei denen die Transportsysteme mit c-AMP stimuliert werden konnten, erlauben eine eindeutige Aussage über die Richtung der Ionenfluxe und damit über die Mechanismen der Erhaltung der Transparenz der Cornea. Die beschriebenen Experimente erhalten ihre Bedeutung besonders durch die Einordnung in die Diskussion um die Regulation der Transparenz der Cornea.

Seit Davson (10, 11) und Harris und Nordquist (32) 1955 an enukleierten Augen entdeckten, daß die Corneae bei Abkühlung auf + 4° Celsius infolge eines Corneaödems anschwollen und trübe wurden und daß dieses Ödem nach Wiedererwärmen (temperature reversal), bzw. unter Inkubation mit Nährstoffen und Sauerstoff verschwand, ist bekannt, daß der Hydrationszustand der Cornea und damit ihre Transparenz von ihrem Zellstoffwechsel und der Bereitstellung von Stoffwechselenergie abhängig ist. Welcher Mechanismus jedoch für die Entfernung von Flüssigkeit aus dem ödematösen Gewebe verantwortlich ist, ist bisher für die verschiedenen Epithelien noch nicht im einzelnen aufgeklärt und auch noch umstritten (23, 54). Modellvorstellungen über dafür in Frage kommende aktive Transporte an den verschiedenen Cornea-Präparaten sind in Abb. 8 schematisch dargestellt. An der Froschcornea ist es hauptsächlich eine Cl-Pumpe im Epithel (61), die nach auswärts zur Tränenflüssigkeit gerichtet ist und die damit die Kontrolle über den Hydratationszustand der Cornea ausüben kann. Durch die Erhöhung des osmotischen Druckes in der Tränenflüssigkeit wird Wasser dem Chlorid von innen nach außen folgen. Diese Pumpe ist mittels c-AMP stimulierbar. Hier ließ sich sogar gleichzeitig mit der Stimulierung des Cl-Transportes eine Zunahme

der Transparenz, d.h. der Lichtdurchlässigkeit durch die Cornea mittels eines Photometers messen (7, 60). Außerdem wurde eine Natrium-Pumpe in Richtung Endothel nachgewiesen. Eine Bedeutung für die Transparenz scheint dem Endothel jedoch nicht zuzukommen (60).

Die erste stoffwechselabhängige Pumpe, die an der Kaninchencornea nachgewiesen wurde, sollte ihren Sitz im Epithel haben und aktiv Natrium von den Tränen in das Stroma transportieren (15, 27, 28), eine Transportrichtung, die zunächst keine Aufklärung darüber geben konnte, wie die Flüssigkeit aus dem Stromagewebe herauskommt, die dem Natrium auf Grund des osmotischen Gradienten folgt. Während Green (26, 29, 30) versuchte, eine Korrelation zwischen Na-Gehalt des Stromas und Hydrationszustand der Cornea in dem Sinn nachzuweisen, daß ein hoher Na-Gehalt des Stromas mit einem niedrigen Wassergehalt einhergeht und dies auf das durch Natrium reduzierbare Quellungsvermögen der Mucopolysaccharide zurückführte, sprachen Maurice und andere (12, 13, 43, 44, 47) dem Endothel der Kaninchencornea die entscheidende Bedeutung für den aktiven Dehydratationsmechanismus zu; eine hier lokalisierte Pumpe sollte Natrium und Wasser gegen den intraokulären Druck in das Kammerwasser hineintransportieren. Unterstützung findet diese Theorie durch neuere Untersuchungen, die eine elektrische PD über dem Endothel der Kaninchencornea nachweisen können, die eine Korrelation mit dem aktiven Na-Transport und dem Flüssigkeitsstrom durch das Endothel zeigt (3, 20, 21, 36).

Auch die von Klyce et al. (39) und van der Heyden et al. (35) kürzlich am Kaninchen gefundene Cl-Pumpe, die Chlorid in Richtung Tränenflüssigkeit transportiert, ist auf Grund

ihrer Transportrichtung der Dehydration nützlich; dies konnte Klyce durch direkte Dickenmessungen an Kaninchencorneae nachweisen, deren Endothel zuvor entfernt und deren Chloridtransport durch Theophyllin stimuliert worden war (38). Diese Befunde deuten auf eine synergistische Wirkung von Endothel und Epithel hin.

An der isolierten Menschencornea fanden wir unter c-AMP eine aktive Natrium- und Chloridpumpe mit Richtung vom Endothel zum Epithel. Diese Transportrichtung erlaubt die Annahme, daß diese Pumpen die Kontrolle über die Transparenz ausüben, indem sie die genannten Ionen zusammen mit Wasser aus der Cornea heraustransportieren und daß die Aktivität der Pumpen von der Anwesenheit von c-AMP, bzw. Adenylcyclase abhängig ist. Somit läßt sich die menschliche Cornea, besonders was das Vorhandensein, die Stimulierbarkeit und Richtung der Chlorid-Pumpe anbelangt, in eine Reihe mit den Corneae von Frosch und Kaninchen stellen. Der einzige Speziesunterschied scheint in dem Vorhandensein eines aktiven Na-Transportes vom Endothel zum Epithel zu liegen, der sich aber sehr gut in die Vorstellungen über den Mechanismus der Dehydratation einordnen läßt.

Ob dem Endothel eine Bedeutung für die Aufrechterhaltung der Transparenz an der Menschencornea durch Vorhandensein von aktiven Pumpen zukommt, wie das z.B. von Maurice (44) für die Kaninchencornea postuliert wurde, ist bisher nicht untersucht. Die Abwesenheit einer elektrischen Potentialdifferenz in den Endothelzellen oder über das Endothel, über die von Lichey et al. (41) berichtet wurde, scheint dagegen zu sprechen. Da bei Primaten die Aktivität von c-AMP fast ausschließlich im Epithel der Cornea lokalisiert

ist (49) und da in Bezug auf die elektrophysiologischen Parameter zwischen Cornea von Mensch und Affen kein Unterschied besteht (22), sind die von uns nachgewiesenen, c-AMP empfindlichen Transporte wahrscheinlich im Epithel lokalisiert.

Die Tatsache, daß in der Augenheilkunde Krankheiten existieren, bei denen eine Läsion des Endothels ein Corneaödem hervorrufen kann, unterstützt aber auch die Annahme, daß ein intaktes Endothel für die Transparenz der Cornea vonnöten ist. Welcher Mechanismus hierbei eine Rolle spielen könnte, muß noch dahingestellt bleiben.

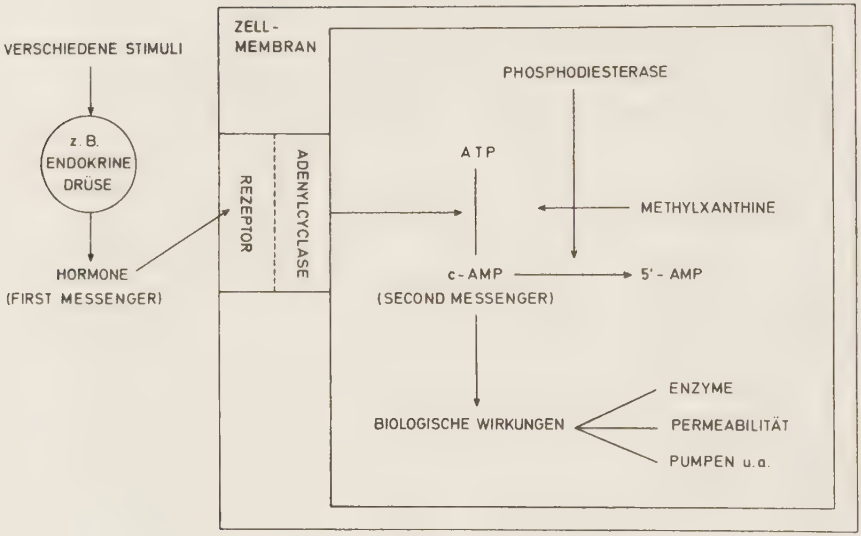

Abb. 7: Schematische Darstellung des "second messenger"-Konzepts (modifiziert nach Sutherland (56)).

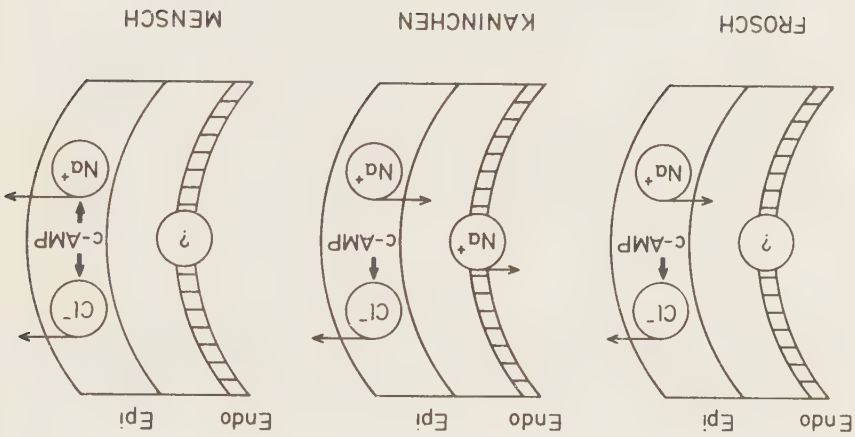

Abb. 8: Schematische Darstellung der aktiven Elektrolyttransporte an der isolierten menschlichen Cornea verschiedener Spezies.

Zusammenfassung

An der isolierten menschlichen Cornea konnte mit Hilfe von Isotopen gezeigt werden, daß c-AMP in einer Konzentration von 10^{-3} M den aktiven Natrium- und Chloridtransport vom Endothel zum Epithel, d.h. vom Kammerwasser zur Tränenflüssigkeit, stimuliert. Der Nettoflux von Natrium erhöhte sich von 0,05 auf 0,65 uÄq·cm^{-2}·h^{-1} und der Nettoflux von Chlorid von 0,08 auf 0,88 uÄq·cm^{-2}·h^{-1}. Gleichzeitig zeigte sich unter c-AMP eine Erhöhung des Kurzschlußstroms von 1,43 auf 2,14 uA·cm^{-2}. Die Potentialdifferenz an der Cornea wurde nicht signifikant beeinflußt. 10^{-5} M Noradrenalin stimulierte nur in einzelnen Experimenten den Kurzschlußstrom. Ein signifikanter Effekt auf die Isotopenfluxe von Natrium und Chlorid konnte nicht nachgewiesen werden.

Der nachgewiesene Na- und Cl-Auswärtstransport vom Kammerwasser zur Tränenflüssigkeit steht im Dienste der aktiven Dehydrierung der Cornea zur Aufrechterhaltung ihrer Transparenz.

6.0 Literatur

1. Akaike,N., Hori,M.: Effect of anions and cations on membrane potential of rabbit corneal epithelium. Amer.J.Physiol. 219: 1811-1818 (1970)

2. Baba,W.I., Smith,A.J., Townsend,M.M.: The effects of vasopressin, theophyllin, and cyclic 3',5' adenosine monophosphate on sodium transport across the frog skin. Q.J.Exp.Physiol. 52: 416-421 (1967)

3. Barfort,P., Maurice,D.: Electrical potential and fluid transport across the corneal endothelium. Exp.Eye Res. 19: 11-19 (1974)

4. Butcher,R.W., Robinson,G.A., Hardman,J.G., Sutherland, E.W.: The role of cyclic AMP in hormone actions. Adv.Enzyme Regul. 6: 357-389 (1968)

5. Candia,O.H.: Effect of pH on chlorid transport across the isolated bull-frog cornea. Exp.Eye Res. 15: 375-382 (1973)

6. Candia,O.H., Askew,W.A.: Active sodium transport in the isolated bull-frog cornea. Biochim.Biophys. Acta 163: 262-265 (1968)

7. Chalfie,M., Neufeld,A.H., Zadunaisky,J.A.: Action of epinephrine and other cyclic AMP-mediated agents on the chloride transport of the frog cornea. Invest.Ophthal. 11: 644-650 (1972)

8. Chase,L.R., Fedak,S.A., Aurbach,G.D.: Activation of skeletal adenyl cyclase by parathyroid hormone in vitro. Endocrinology 84: 761-768 (1969)

9. Chase,L.R., Aurbach,G.D.: The effect of parathyroid hormone on the concentration of adenosine 3',5' monophosphate in skelettal tissue in vitro. J.biol.Chem. 245: 1520-1526 (1970)

10. Davson,H.: Hydration of the cornea. J.Physiol. 125: 15P-16P (1954)

11. Davson,H.: The hydration of the cornea. Biochem.J. 59: 24-28 (1955)

12. Dikstein,S., Maurice,D.M.: The active control of corneal hydration. Israel.J.Med.Sci. 8: 1523-1528 (1972)

13. Dikstein,S., Maurice,D.M.: The metabolic basis to the fluid pump in the cornea. J.Physiol. 221: 29-41 (1972)

14. Donn,A., Maurice,D.M., Mills,N.L.: Studies on the living cornea in vitro. I. Method and physiologic measurements. Arch.Ophthal. 62: 741-747 (1959)

15. Donn,A., Maurice,D.M., Mills,N.L.: Studies on the living cornea in vitro. II. The active transport of sodium across the epithelium. Arch.Ophthal. 62: 748-757 (1959)

16. Ehlers,N.: Intracellular potentials of the corneal epithelium. Acta Physiol.Scand. 78: 471-477 (1970)

17. Ehlers,N., Ehlers,D.: Effects of hydrostatic and colloidosmotic pressure on electrical potential and short-circuit current across the explanted rabbit cornea. Acta Ophthal. 46: 767-778 (1968)

18. Ferguson,D.R., Price,R.H.: The actions of cyclic nucleotideson the toad bladder. In: Advances in Cyclic Nucleotide Research, Bd. 1, New York 1972, Seite 131-119

19. Field,M.: Ion transport in rabbit ileal mucosa II. Effects of c-AMP. Am.J.Physiol. 221: 992-997 (1971)

20. Fischbarg,J.: Active and passive properties of the rabbit corneal endothelium. Exp.Eye Res. 15: 615-638 (1973)

21. Fischbarg,J.: Potential difference and fluid transport across rabbit corneal endothelium. Biochim.Biophys. Acta 288: 362-366 (1972)

22. Fischer,F., Voigt,G., Liegl,O., Wiederholt,M.: Effect pH on potential difference and short circuit current in the isolated human cornea. Pflügers Arch. 349: 119-131 (1974)

23. Friedman,M.H.: Unsteady aspects of corneal thickness control. Exp.Eye Res. 15: 645-658 (1973)

24. Friedman,E., Kupfer,C.: Transcorneal potential in vivo Arch.Ophthal. 64: 892-896 (1960)

25. Grahame-Smith,D.G., Butcher,R.W., Ney,R.L., Sutherland, E.W.: Adenosine 3',5' monophosphate as the intracellular mediator of the action of adrenocorticotropic hormone on the adrenal cortex. J.biol.Chem. 242: 5535-5541 (1967)

26. Green,K.: Dependence of corneal thickness on epithelial ion transport and stromal sodium. Am.J.Physiol. 217: 1169-1177 (1969)

27. Green,K.: Ion transport in isolated cornea of the rabbit. Am.J.Physiol. 209: 1311-1316 (1965)

28. Green,K.: Relation of epithelial ion transport to corneal thickness. Nature, Lond. 217: 1074-1075 (1968)

29. Green,K.: Stromal cation binding after inhibition of epithelial transport in the cornea. Am.J.Physiol. 218: 1642-1649 (1970)

30. Green,K., Hastings,B., Friedman,M.H.: Sodium ion binding in isolated corneal stroma. Am.J.Physiol. 220: 520-525 (1971)

31. Harris,J.B., Alonso,D.: Stimulation of gastric mucosa by adenosine 3',5' monophosphate. Fed.Proc. 24: 1368-1376 (1965)

32. Harris,J.E., Nordquist,L.T.: The hydration of the cornea. I. Transport of water from the cornea. Amer.J.Ophthal. 40: 100-110 (1955)

33. Hedbys,B.O., Mishima,S.: Flow of water in the corneal stroma. Exp.Eye Res.: 1: 262-275 (1962)

34. Hedbys,B.O., Mishima,S.: The thickness-hydration relationship of the cornea. Exp.Eye Res. 5: 221-228 (1966)

35. Van der Heyden,C., Weekers,J.F., Schoffeniels,E.: Sodium and chloride transport across the isolated rabbit cornea. Exp. Eye Res. 20: 89-96 (1975)

36. Hodson,S.: The regulation of corneal hydration by a salt pump requiring the presence of sodium and bicarbonate ions. J.Physiol. 236: 271-302 (1974)

37. Klyce,S.D.: Electrical profiles in the corneal epithelium. J.Physiol. 226: 407-429 (1972)

38. Klyce,S.D.: Transport of Na, Cl, and water by the rabbit corneal epithelium at resting potential. Am.J.Physiol. 228: 1446-1452 (1975)

39. Klyce,S.D., Neufeld,A.H., Zadunaisky,J.A.: The activation of chloride transport by epinephrine and Db cyclic-AMP in the cornea of the rabbit. Invest. Ophthal. 12: 127-139 (1973)

40. Leaf,A., Anderson,J., Page,L.B.: Active sodium transport by the isolated toad bladder. J.Gen.Physiol. 41: 657-668 (1958)

41. Lichey,H.J., Fischer,F., Wiederholt,M.: Intracellular potentials in the isolated human cornea. Pflügers Arch. 345:351-360 (1974)

42. Lindemann,B.: Resting potential of isolated beef cornea. Exp.Eye Res. 7: 62-69 (1968)

43. Maurice,D.M.: The cornea and sclera. In: The Eye Bd. 1, hersg. v. Davson,H., New York, London 1969, S. 489-599

44. Maurice,D.M.: The location of the fluid pump in the cornea. J.Physiol. 221: 43-54 (1972)

45. Maurice,D.M.: The structure and transparency of the cornea. J.Physiol. 136: 263-286 (1957)

46. Melson,G.L., Chase,L.R., Aurbach,G.D.: Parathyroid hormone-sensitive adenyl cyclase in isolated renal tubules. Endocrinology 86: 511-518 (1970)

47. Mishima,S., Kudo,T.: In vitro incubation of rabbit cornea. Invest.Ophthal. 6: 329-339 (1967)

48. Montoreano,R., Candia,O.A., Cook,P.: α- and ß-adrenergic receptors in regulation of ionic transport in frog cornea. Am.J.Physiol. 230: 1487-1493 (1976)

49. Neufeld,A.H., Sears,M.L.: Cyclic-AMP in ocular tissues of the rabbit, monkey, and human. Invest.Ophthal. 13: 475-477 (1974)

50. Orloff,J., Handler,J.S.: The similarity of effects of vasopressin, adenosine-3',5'-phosphate (cyclic AMP) and theophylline on the toad bladder. J.Clin.Invest. 41: 702-709 (1962)

51. Orloff,J., Handler,J.S.: The role of adenosine 3',5'-phosphate in the action of antidiuretic hormone. Am.J.Med. 42: 757-768 (1967)

52. Ploth,D.W., Hogben,C.A.M.: Ion transport by the isolated frog cornea. Invest. Ophthal. 6: 340-347 (1967)

53. Potts,A.M., Modrell,R.W.: The transcorneal potential. Am.J.Ophthal. 44: 284-290 (1957)

54. Riley,M.V.: The role of epithelium in control of corneal hydration. Exp.Eye Res. 12: 128-137 (1971)

55. Schwarz,W., Keyserlingk,D.: Über die Feinstruktur der menschlichen Cornea mit besonderer Berücksichtigung des Problems der Transparenz. Zeitschr.f.Zellforschung 73: 540-548 (1966)

56. Sutherland,E.W.: Studies on the mechanism of hormone action. Science 177: 401-408 (1972)

57. Sutherland,E.W., Butcher,R.W., Robinson,G.A., Hardman,J.G.: The role of adenosine 3',5'-monophosphate in hormone action. In: Wirkungsmechanismus der Hormone, Hrsg. v. Karlson, P., Berlin, Heidelberg, New York 1967, Seite 1-29.

58. Ussing,H., Zehran,K.: Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. Acta Phys.Scandinav. 23: 110-127 (1951)

59. Zadunaisky,J.A.: Active transport of chloride in frog cornea. Am.J.Physiol. 211: 506-512 (1966)

60. Zadunaisky,J.A.: Electrophysiology and transparency of the cornea. In: Electrophysiology of epithelial cells, hrsg. v. Giebisch,G., Stuttgart 1971, S. 225-250.

61. Zadunaisky,J.A., Lande,M.A.: Active chloride transport and control of corneal transparency. Am.J.Physiol.: 221: 1837-1844 (1971)

62. Zadunaisky,J.A., Lande,M.A., Hafner,J.: Further studies on chloride transport in the frog cornea. Am.J.Physiol. 221: 1832-1836 (1971)

63. Zor,U., Kaneko,T., Lowe,I.P., Bloom,G.: Effect of thyroid-stimulating hormone and prostaglandins on thyroid adenyl cyclase activation and cyclic adenosine 3',5'-monophosphate. J.biol.Chem. 244: 5189-5195 (1969)

Ich danke Herrn Professor Dr. M. Wiederholt für die Überlassung des Themas und die hervorragende Betreuung während der Durchführung der Experimente und der schriftlichen Niederlegung der Arbeit.
Herrn Dr. med. Frank Fischer danke ich für die Einführung in die Untersuchtungstechnik und für die kritische Durchsicht der vorliegenden Arbeit.
Ich danke dem Pathologischen Institut des Klinikums Steglitz für die bereitwillige Unterstützung bei der Beschaffung des Untersuchungsmaterials.

Lebenslauf

Name:	Sylvia Schartl geborene Meckel
Geburtstag:	6.7.1948
Geburtsort:	Wiesbaden
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Familienstand:	verheiratet seit dem 27.7.1973 mit dem Assistenzarzt Dr. Michael Schartl
Vater:	Heinrich Meckel, geb. am 4.3.1906 Beruf: Rentner, ehem. Diplom-Ingenieur
Mutter:	Liselotte Meckel geb. Weber, geb. am 4.11.1917, Beruf: Hausfrau
Schulausbildung:	1955-1958: Kollenrodt-Volksschule Hannover 1964-1966: Gymnasium Kaiserin-Augusta-Schule Köln
Schulabschluß:	Abitur am 7.11.1966
Studium:	1966-1967: Geschichte und Politologie Universität Köln 1967-1971: Politologie am Otto-Suhr-Institut der FU Berlin. Abschluß als Diplom-Politologin am 28.6.1971 1971-1976: Humanmedizin an der FU-Berlin. Dort medizinisches Staatsexamen am 29.10.1976
Berufsausbildung:	Seit 1. November 1976 Medizinalassistentin in der Chirurgischen Abteilung des Klinikums Charlottenburg

DISSERTATIONSDRUCK MONATH
Wichurastr. 58 c Tel. 030/775 47 77 1 Berlin 46